

学校编码: 10384

分类号 密级

学号: 24520111153329

UDC

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

磷脂酶 D 通过 Wnt 信号通路诱导人结肠癌  
细胞增殖和侵袭

Phospholipase D induced cell proliferation and invasion via  
Wnt signaling pathway in human colon cancer cells

高 雅

指导教师姓名: 胡 天 惠 教授

专 业 名 称: 生 理 学

论文提交日期: 2014 年 6 月

论文答辩时间: 2014 年 5 月

学位授予日期: 2014 年 6 月

答辩委员会主席:

评 阅 人:

2014 年 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于        年        月        日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年        月

## 摘要

结肠癌是消化道中最常见的恶性肿瘤之一，发病率在恶性肿瘤中位居第四，严重威胁人类的健康。近年来结肠癌的发病率仍呈不断上升趋势。磷脂酶 D(Phospholipase D, PLD)是维持机体正常功能的重要酶类，在哺乳动物体内存在两种亚型：PLD1 和 PLD2。多种癌症中均伴有 PLD 的异常表达和活化现象，虽然大量文献报道 PLD 涉及多种类型肿瘤的进程，但是，对 PLD 的调控和作用机制我们仍所知甚少。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的异常活化以及靶基因的过度活化与多种癌症相关。最新研究揭示 PLD 作为  $\beta$ -catenin/T-cell factor (TCF)的转录靶标，并通过 PLD 强化细胞的增殖和转移。然而，对 Wnt 信号通路参与 PLD 的作用机制的报道还比较少。本课题将以这一方向展开研究，继续深入探讨 PLD 与 Wnt 信号通路之间的关系。我们以体外培养的人结肠癌细胞系 KM12C、KM12SM，PLD 稳定转染细胞株和裸鼠荷结肠癌模型为研究对象，对 PLD 的生物学功能以及调节机制进行了较为深入的探讨，尤其是探讨 PLD 与 Wnt 信号通路在诱导细胞增殖和侵袭中的作用机制。

我们首先采用 MTT 法分别测定两种细胞系经 PLD 质粒转染 24 h 后的细胞增殖存活率。结果表明，PLD 对 KM12C 和 KM12SM 细胞具有明显的存活促进作用。为了探讨 PLD 是否具有诱导人结肠癌细胞迁移的能力，我们首先采用细胞划痕实验，观察到 PLD 可以有效诱导 KM12C 和 KM12SM 细胞发生迁移。同时，我们还用 western blot 检测了 PLD 对  $\beta$ -catenin 蛋白在细胞核和细胞浆内的表达变化的影响。结果发现在 PLD 过表达的 KM12C 和 KM12SM 细胞中  $\beta$ -catenin 蛋白在细胞核内的表达水平均明显提高，细胞质中的  $\beta$ -catenin 蛋白表达水平降低。进而我们观察经不同浓度 PLD 质粒转染的 KM12C 细胞中 Wnt 下游基因 c-Myc 和 cyclinD1 的细胞全蛋白表达水平。结果显示，c-Myc 和 cyclinD1 的蛋白表达量随着 PLD 的表达增多而升高，而  $\beta$ -catenin 蛋白表达的变化不明显。接着，我们构建了高表达 PLD 的人结肠癌细胞 KM12SM 稳定转染细胞株，为了进一步的探究 PLD 在结肠癌细胞中的作用机制，我们分别采用了 MTT、Realtime PCR、荧光素酶报告基因和 transwell 细胞侵袭的实验方法检测了 PLD 稳定转染细胞株

的生物学功能和 Wnt 信号通路活性的变化情况。MTT 的结果显示稳转株细胞增殖率较对照组细胞显著提高；Realtime PCR 和荧光素酶报告基因实验的结果显示，稳转细胞株中 Wnt/ $\beta$ -catenin 的转录活性显著提高，靶基因 c-Myc、cyclinD1 的 mRNA 表达水平也明显上升；transwell 细胞侵袭实验和 western blot 的结果显示，稳转细胞株中 MMP2 和 MMP9 的全蛋白表达水平以及细胞迁移、侵袭能力均显著提高。最后，建立裸鼠移植瘤模型，证实高表达 PLD 可以在裸鼠体内促进人结肠癌 KM12SM 细胞的增殖生长，并同步观察到肿瘤组织中  $\beta$ -catenin 蛋白在细胞核内的表达显著提高，Wnt 信号通路下游基因 c-Myc、cyclinD1 和细胞增殖标志蛋白 PCNA、Ki67 的表达水平均明显增强。

综上所述，本论文的研究结果证实了 PLD 具有促进人结肠癌细胞的存活增殖及细胞迁移、侵袭的能力，并且显示 PLD 通过提高 Wnt 信号通路的活性促进人结肠癌细胞增殖和转移，促进  $\beta$ -catenin 蛋白入核进而转录活化 Wnt 信号通路靶基因的表达可能是其调节结肠癌细胞增殖和转移的分子机制之一。通过这些研究，较为详细地阐明了 PLD 在体内外对人结肠癌细胞存活增殖的促进作用与机制，为以 PLD 为靶点的肠癌药物开发奠定理论基础。

**关键词：**结肠癌 PLD Wnt 信号通路

## Abstract

Colorectal cancers is one of the most common gastrointestinal malignancy, the incidence rate of colorectal cancers is the forth in malignant tumors over the world, which is a serious threat to human health. In recent years, the incidence of colorectal cancers continued to show a rising trend. Phospholipase D(PLD) has emerged as a regulator of several critical aspects of cell physiology. Two mammalian PLD genes have been reported: PLD1 and PLD2. There are abnormalities in PLD expression and activity in many human cancers, a large number of studies showed that PLD has been implicated in progression of variety carcinoma. But the mechanism remains poorly understood. Aberrant activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, followed by hyper-activation of target genes, is linked to a wide range of cancers. New studies reveal PLD is a transcriptional target of  $\beta$ -catenin/T-cell factor (TCF) and reinforces Wnt/ $\beta$ -catenin signaling related with cellular transformation. However, the depth relationship between Wnt signaling and PLD remains incomplete. In this study, human colon carcinoma cell lines KM12C、KM12SM, PLD stable transfected cell lines and the model of human colon carcinoma xenograft in nude mice were studied to investigate the effect of phospholipase D on colon cancers and especially to find the effect of phospholipase D on Wnt-mediated proliferation pathway and migration pathway.

First of all, we determined the viabilities of the cell lines tranfected with PLD plasmids for 24 h. The results show that PLD can significantly increase the viabilities of human colon carcinoma cell lines KM12C and KM12SM. We did the wound healing assays to investigate whether PLD can induce human colon carcinoma cells migration. We found that PLD induced KM12C and KM12SM cells migration after transfected PLD plasmids for 48h. We also found that PLD significantly increased expression of  $\beta$ -catenin in nucleus in KM12C and KM12SM cells, and also increased expression of c-Myc and cyclinD1. Then we build the PLD stable transfected cell lines and use the MTT assay, realtime PCR, luciferase reporter gene assay and cell invasion assay to detect the biological function of PLD stable transfection cells. We found that in PLD stable transfected cells, the activity of Wnt singaling were higher than the control cells, the c-Myc and cyclinD1 mRNA level and the cell invasion

ability were also increased. Finally, we found that PLD increased the proliferation of KM12SM and the expression of genes related to cell proliferation and target genes of Wnt signaling in tumor tissues.

Conclusions: our studies confirm that phospholipase D can increase cell viabilities, induce cell migration and invasion, and clarify that phospholipase D induced cell proliferation and tumor metastasis via overexpress  $\beta$ -catenin in nucleus and activate Wnt signaling pathway in KM12C and KM12SM cells. This study may provide the molecular basis for anticancer agents targeting phospholipase D.

**Key Words:** colon carcinoma; Phospholipase D; Wnt signaling pathway

# 目 录

中文摘要.....	I
英文摘要.....	III
第 1 章 引言 .....	1
1.1 磷脂酶D .....	2
1.1.1 PLD 的生物学功能 .....	3
1.1.2 PLD 在肿瘤中发生、发展中的作用 .....	3
1.1.3 PLD 的调控机制 .....	7
1.2 PLD 参与的信号通路 .....	7
1.2.1 PLD 与 mTOR 信号通路 .....	8
1.2.2 PLD 与 Wnt 信号通路 .....	9
1.3 本课题研究的目标、内容与意义 .....	11
第 2 章 实验材料与方法 .....	12
2.1 实验材料 .....	12
2.1.1 细胞系、质粒和裸鼠 .....	12
2.1.2 工具酶和抗体 .....	12
2.1.3 主要化学试剂和耗材 .....	13
2.1.4 细胞培养试剂 .....	14
2.1.5 主要仪器 .....	14
2.1.6 主要溶液配制 .....	15
2.2 实验方法 .....	18
2.2.1 细胞培养 .....	18
2.2.2 细胞增殖存活率测定 (MTT 法) .....	20
2.2.3 PLD 稳定转染 KM12SM 细胞株的建立 .....	20
2.2.4 总蛋白浓度测定(BCA 法测定蛋白浓度) .....	22
2.2.5 免疫共沉淀与 Western Blot 检测蛋白表达 .....	23
2.2.6 质粒的中量提取 .....	26
2.2.7 脂质体转染(Lipofect AMINE 2000 reagent) .....	27
2.2.8 实时定量 RT-PCR 法 .....	27



2.2.9 免疫组化染色.....	28
2.2.10 Transwell 细胞迁移和侵袭实验.....	29
2.2.11 荧光素酶报告基因检测.....	29
_Toc53752.2.12 裸鼠移植瘤实验.....	31
2.2.13 数据处理.....	31
<b>第 3 章 实验结果 .....</b>	<b>32</b>
<b>第一部分 体外实验 .....</b>	<b>32</b>
3.1 PLD 调节结肠癌细胞生物学功能 .....	32
3.1.1 PLD 对人结肠癌细胞增殖存活率的影响 .....	32
3.1.2 PLD 对人结肠癌细胞迁移的影响 .....	33
3.1.3 磷脂酶 D 促进人结肠癌细胞增殖和迁移的分子机制.....	34
3.2 在人结肠癌细胞 KM12SM 中构建 PLD 稳定转染细胞株 .....	36
3.2.1 KM12SM 细胞株的 G418 筛药最佳浓度的确定 .....	36
3.2.3 PLD 的人结肠癌细胞稳转细胞株的鉴定 .....	37
3.3 PLD 稳定转染细胞株的生物学功能 .....	38
3.3.1 PLD 的稳定转染细胞株的增殖存活率的变化 .....	38
3.3.2 PLD 的稳定转染细胞株的迁移和侵袭能力的变化 .....	38
3.3.3 PLD 的稳定转染细胞株的 Wnt 信号通路活性变化情况 .....	39
<b>第二部分 体内实验结果 .....</b>	<b>41</b>
3.4 PLD 可促进裸鼠肿瘤增长 .....	41
3.5 PLD 可升高裸鼠移植瘤组织内多种蛋白表达 .....	44
<b>第 4 章 讨论 .....</b>	<b>46</b>
4.1 PLD 对人结肠癌细胞的存活具有明显的促进作用 .....	47
4.2 PLD 能够提高人结肠癌细胞的 Wnt 信号通路活性.....	48
4.3 构建 KM12SM 细胞的 PLD 稳定转染细胞株 .....	50
4.3.1 高表达 PLD 的稳定转染细胞株的建立 .....	51
4.3.2 高表达 PLD 的稳定转染细胞株的生物学功能检测 .....	52
4.3.3 高表达 PLD 的稳定转染细胞株的 Wnt 通路活性检测 .....	53
4.4 PLD 有效促进裸鼠移植瘤的生长和多种蛋白表达 .....	54
<b>第 5 章 结论 .....</b>	<b>56</b>
5.1 体外细胞学实验 .....	56
5.2 体内(裸鼠)实验.....	56

参 考 文 献 .....	57
附 录（综述） .....	64
致 谢.....	72

厦门大学博硕士论文摘要库

## Table of Contents

<b>Abstract in Chinese .....</b>	<b>I</b>
<b>Abstract in English .....</b>	<b>III</b>
<b>Chapter I Preface .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 phospholipase D .....</b>	<b>2</b>
1.1.1 The biological function of phospholipase D .....	3
1.1.2 The role of phospholipase D in tumorigenesis and development .....	3
1.1.3 Regulation of phospholipase D .....	7
<b>1.2 The signaling pathway associated with phospholipase D .....</b>	<b>7</b>
1.2.1 The mTOR signaling pathway .....	8
1.2.2 The Wnt signaling pathway .....	9
<b>1.3 Aims, contents and significance of the projects .....</b>	<b>11</b>
<b>Chapter II Materials and methods .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1 Materials .....</b>	<b>12</b>
2.1.1 Cell lines, plasmit and nude mice .....	12
2.1.2 Enzymes and antibodies .....	12
2.1.3 Chemical reagents .....	13
2.1.4 Reagents for cell culture .....	14
2.1.5 Equipments .....	14
2.1.6 Buffers .....	15
<b>2.2 Methods .....</b>	<b>18</b>
2.2.1 Cell culture .....	18
2.2.2 Cell viability (MTT assay) .....	20
2.2.3 Construction of PLD stable transfected cell lines .....	20
2.2.4 Protein concentration determination(Coomassie Blue staining) .....	22
2.2.5 Co-IP and Western Blot .....	23
2.2.6 Plasmid extraction .....	26
2.2.7 Transfection (Lipofect AMINE 2000 reagent) .....	27
2.2.8 Realtime PCR .....	27
2.2.9 Immunohistochemical Staining .....	28
2.2.10 Cell migration and invasion assay .....	29

2.2.11 Dual luciferase assay .....	29
2.2.12 Tumor xenograft in nude mice .....	31
2.2.13 Data analysis .....	31
<b>Chapter III Results.....</b>	<b>32</b>
<b>The first part: Experiments <i>in vitro</i> .....</b>	<b>32</b>
<b>3.1 Effect of phospholipase D on biological function in human colon carcinoma cells.....</b>	<b>32</b>
3.1.1 Effect of phospholipase D on the viabilities of human colon carcinoma cells .....	32
3.1.2 Effect of phospholipase D on the cell migration of human colon carcinoma cells .....	33
3.1.3 The mechanism of phospholipase D induces proliferation and migration in human colon carcinoma cells.....	34
<b>3.2 Construction of phospholipase D stable transfected cell lines in human colon carcinoma cells.....</b>	<b>36</b>
3.2.1 Optimal concentration of G418 in human colon carcinoma cells.....	36
3.2.2 Identification of phospholipase D stable transfected cell lines.....	37
<b>3.3 Biological function of phospholipase D stable transfected cell lines .....</b>	<b>38</b>
3.3.1 The viabilities of phospholipase D stable transfected cell lines .....	38
3.3.2 The proliferation and invasion of phospholipase D stable transfected cell lines.....	38
3.3.3 The activity of Wnt signaling pathway in phospholipase D stable transfected cell lines.....	39
<b>The first part: Experiments <i>in vivo</i> .....</b>	<b>41</b>
<b>3.4 Effect of phospholipase D on the proliferation of human colon carcinoma cells <i>in vivo</i>.....</b>	<b>41</b>
<b>3.5 Phospholipase D increased many kinds of proteins expression in nude mice transplantable tumor tissue .....</b>	<b>44</b>
<b>Chapter IV Discussions.....</b>	<b>46</b>
<b>4.1 Elevation effect of phospholipase D on the viabilities of human colon carcinoma cells.....</b>	<b>47</b>
<b>4.2 Phospholipase D activate Wnt signaling pathway in human colon carcinoma cells.....</b>	<b>48</b>
<b>4.3 Construction of phospholipase D stable transfected cell lines in human colon carcinoma cells.....</b>	<b>50</b>
<b>4.4 Effect of phospholipase D on proliferation and multiple proteins elevation of human colon carcinoma cells <i>in vivo</i> .....</b>	<b>54</b>
<b>Chapter V Conclusions.....</b>	<b>56</b>

5.1 Experiments <i>in vitro</i> .....	56
5.2 Experiments <i>in vivo</i> .....	56
<b>References .....</b>	<b>57</b>
<b>Appendix(Review).....</b>	<b>64</b>
<b>Acknowledgements .....</b>	<b>72</b>

厦门大学博硕士论文摘要库

## 第1章 引言

如今,恶性肿瘤已成为当今世界危害人类健康最严重的疾病之一。据国际癌症研究组织(IARC)报道,全球 2008 年新发肿瘤病人 1266.7 万余人之多,单体在 75 岁之前患肿瘤的危险性高达 18.7%,仅 2010 年肿瘤死亡病例就达到 757.15 万人。而在我国恶性肿瘤年龄标化发病率排名前六位中,消化道恶性肿瘤占据了“半壁江山”,高于世界平均水平。国内 2008 年恶性肿瘤发病率为 299.12/10 万(男性 330.16/10 万,女性 267.56/10 万),死亡率为 184.67/10 万(男性 22.14/10 万,女性 140.48/10 万)<sup>[1]</sup>。肿瘤的名称根据发生的部位不同来命名,已经发现有 100 多种不同部位的肿瘤组成,其中消化道肿瘤包括食管癌、胃癌、结直肠癌。2008 年 Globcan 资料显示,结直肠癌、胃癌及食管癌分列各肿瘤年龄标化发病率的第 4、6、9 位,而年龄标化死亡率食管癌、胃癌、结直肠癌则分列第 5、4、3 位。由此可见,消化道肿瘤的防治在肿瘤防治中占据举足轻重的地位。

结肠癌是消化道中最常见的恶性肿瘤之一<sup>[2]</sup>,发病年龄以 40~70 岁最多见。我国结直肠癌 2008 年新发病例 231313 例,年龄标化发病率为 14.2/10 万;死亡病例 110486 例,年龄标化死亡率为 6.9/10 万。在世界范围内,其发病率仅次于肺癌、胃癌、食道癌,是位居第四的恶性肿瘤,严重威胁人类的健康。根据 IARC 于 2005 年公布的数据显示,近年来肠癌的发病率呈明显上升趋势,其中主要为结肠癌<sup>[3]</sup>。流行病学及相关动物实验证实,脂类饮食对结肠癌的发生有极为重要影响,饱和脂肪酸饮食习惯国家如欧美等国,结肠癌发病率相对较高,北美和西欧国家的标准发病率分别为 44.4/10 万和 42.9/10 万。在国内,结肠癌发病及死亡率也存在明显地域特征,长江中下游及沿海地区发病及死亡率较高,内陆省区较低;经济发达地区高于不发达地区,其中上海最高,死亡率已达到 11/10 万,而甘肃最低,为 1.8/10 万。调查显示,男性肠癌死亡率与女性相比较,居全部恶性肿瘤第五位。在初诊患者中,中晚期癌占大多数。近十年来,其 5 年生存率徘徊在 50%左右,而在西方国家进展也不大<sup>[4]</sup>。随着结肠癌日益严重地威胁着当代人类的健康,结肠癌的防治尤其是及早诊断显得至关重要。

近年来,结肠癌的外科治疗虽然有一些进展,例如结肠癌的全系膜切除、双

吻合器技术、无瘤操作技术,但仅靠进一步改进外科技术来提高治疗结果已非常困难。伴随消化道肿瘤发展机制的基础研究日渐清晰,在的传统治疗中引入生物免疫治疗,尤其是各种肿瘤生长因子抗体的应用逐步走向临床,中晚期肿瘤的治疗水平已经获得了显著的进步,肿瘤的年龄标化死亡率也有了一定的下降。虽然如此,但中晚期结肠癌的治疗原则没有根本性改变,仍旧是“以手术为主、放化疗及生物治疗为辅的综合治疗”方式。因此,手术相关的并发症仍时有发生,术后患者的生存生活质量仍大打折扣。

为了改进目前的治疗技术,国际上已迈入基因治疗的实验研究阶段。由于结肠癌的发生与饮食、环境、遗传等密切相关,是多种基因突变以及分子缺失协同作用的结果<sup>[5]</sup>。因此,深入研究结肠癌相关基因的潜在功能,探究其在结肠癌发生发展的信号通路网中的作用和地位,对预测结肠癌的发生、发展、治疗效果及预后判断有重要的临床指导意义。涉及参与结肠癌发生发展的信号通路非常多,其中最主要的两条通路是 Wnt 和 EGFR 信号通路,治疗结肠癌的药物也主要集中在阻断 EGFR 途径上。然而,肿瘤的发生发展非常复杂,仅仅通过抑制一个受体或一条信号通路并不能够有效的阻止肿瘤的发展。研究者们都在试图寻找一类具有中心地位的分子,这些分子既能够被多条通路所激活,又能调控下游与细胞生长和转移相关的通路分子。如果能够有效的控制这些分子,就有可能在肿瘤的治疗方面取得突破性的进展。近期的研究表明,磷脂酶 D (Phospholipase D, PLD) 很可能属于这样一类分子。

## 1.1 磷脂酶D

PLD 是维持机体正常功能的重要酶类,在哺乳动物体内存在两种亚型:PLD1 和 PLD2。PLD1 全长 1074 个氨基酸,主要分布于细胞核外周高尔基体膜、溶酶体膜以及内质网膜上,活力受多种分子调节,包括磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸(PIP2)、蛋白激酶 C(PKC)、小 GTP 酶家族成员(如 ARF 及 Rho 因子)等。PLD2 全长 933 个氨基酸,与 PLD1 有 50%左右的同源性,在体外具有相对高的基础活性,活力部分的受到 PKC 的调节,能够被 PIP2、ARF6、佛波酯(phorbol myristate acetate,PMA)及 RhoA 活化。

### 1.1.1 PLD 的生物学功能

PLD 具有多种细胞生理功能, 包括细胞内蛋白质转运、细胞骨架动力学、膜的重塑和细胞增殖。PLD 催化水解磷脂酰胆碱(phosphatidyl-choline, PC)生成磷脂酸 (phosphatidic acid, PA) 和胆碱, PA 能被磷脂酸磷酸酶 (phosphatidatephosphatase, LPPs)水解生成甘油二酯(diacylglycerol, DAG), 或者在磷脂酶 A2(phospholipase A2, PLA2)的作用下生成溶血磷脂酸(Lysophosphatidic acid, LPA)。PA 和 DAG 作为体内重要的第二信使参与一系列信号通路级联反应。PA 具有膜锚的功能, 通过酪氨酸残基的磷酸化将 Raf-1 募集至胞膜, Raf-1 募集至胞膜是丝裂原激活的蛋白激酶(protein kinase, MAPK)信号级联反应活化过程中关键的一步, 并且 MAPK 信号级联反应及 mTOR 的活化均能提供一种促有丝分裂信号, 这可能与部分肿瘤的发生、发展过程密切相关。并已有报道证实诸如在炎症吞噬作用、糖尿病、原癌基因及癌细胞转移等多种疾病中都存在 PLD 活化和 PA 增高过程<sup>[6]</sup>。

大部分 PLD 靶蛋白都被证实与细胞增殖和癌细胞转移有关。研究表明, PLD1 和 PLD2 均可通过提高酪氨酸激酶活性抑制细胞凋亡, 并可与酪氨酸激酶协同参与细胞转化。PLD2 通过募集 Raf 以提供生长信号, 使细胞通过细胞周期检测点, 抑制细胞凋亡。由于 PLD 在肿瘤发展中具有重要作用, PLD 抑制剂成为潜在的抗癌药物。异构选择或双特异性的小分子 PLD 抑制剂目前已经被发现和确认<sup>[7,8]</sup>。PLD 抑制剂在乳腺癌和结肠癌模型中能够降低癌细胞的浸润和锚定非依赖性转移<sup>[7,9]</sup>。故 PLD 抑制剂因其直接或间接抑制 PLD 功能而具有癌症治疗的潜力。

### 1.1.2 PLD 在肿瘤中发生、发展中的作用

PLD 在肿瘤的发生、分化、凋亡及转移等过程中扮演重要的角色。多种恶性肿瘤, 包括乳腺癌、结肠癌、胃癌、肾癌及甲状腺癌中, 均有 PLD 表达及活性上调现象。研究揭示, 过表达 PLD 能够引发同源小鼠形成肿瘤细胞锚定非依赖性的生长、浸润及转移<sup>[9,10]</sup>。最近临床研究中还发现 PLD2 在结肠癌中的表达水平与肿瘤大小及患者生存时间显著相关<sup>[11]</sup>。肿瘤中 PLD 趋向高表达, 且高表达细胞角蛋白 5/17。细胞角蛋白 5/17 是细胞基底样肿瘤的标志物, 常与患者的预后差有关<sup>[12]</sup>。另有研究表明, 有丝分裂信号通路能够上调 PLD 活性, 并能活



Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”. Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库